

# EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WANDERUNG DER PROTOZOEN IM ERDBODEN

Von  
F. BICZÓK

Institut für Allgemeine Zoologie und Biologie der Universität, Szeged  
(Eingegangen am. 28. Dez. 1958)

Die Boden-Protozoologie ist eine relativ junge Wissenschaft und das ist auch der Grund für die vielen ungelösten Probleme und die Widersprüche auf diesem Gebiete. Wennzwar die Anwendung experimenteller Methoden auch hier immer mehr in den Vordergrund rückt, bleiben zahlreiche Fragen dennoch weiter offen. Eine solche Frage ist u. a. die Frage nach dem Ursprunge der Bodenprotozoen. Ich beabsichtige nicht, mich hier in längeren Erörterungen darüber zu ergehen, wie ein Teil der marinen Urprotozoen im Laufe der geologischen Zeitalter zur Eroberung des Bodens gelangte, sondern möchte lieber an Hand einiger Versuche die Frage beleuchten, wie der Boden in unseren Tagen von Zeit zu Zeit bevölkert wird.

In der Verbreitung der urtümlichen Meeresprotozoen im Erdboden spielen höchstwahrscheinlich die kleinen kontinentalen Biotope, Tümpel, Moose und Flechten usw. eine grosse Rolle. Dieses sind die Lebensräume, durch deren Vermittlung der Boden im Laufe der erdgeschichtlichen Epochen bevölkert werden konnte. Wegweiser dieses Prozesses sind:

1. Das Erscheinen von einigen im Meere auch heute lebenden Protozoen im Erdboden,
2. Auftreten und Entwicklung der kontraktilen Vakuole und,
3. Herausbildung der Encystierungsfähigkeit.

Die Bodenprotozoen sind gewöhnlich Süßwasserorganismen, es gibt aber unter ihnen auch einige, deren arteigene Exemplare auch heute noch in den Meeren leben. Solche sind die aus dem Boden, aus der Rhizosphäre in grosser Zahl zu züchtenden *Cyclidium glaucoma*, in Natronboden von Fehértó gefundene *Lionotus fascicola* oder die in der Weizenhizosphäre der Pápa-kovács Wiese sporadisch beobachtete Ciliate *Lacrymaria olor* (9). Es handelt sich hier um saprobische Arten, d. h. solche, die ihre Lebensbedingungen im Boden voll erfüllt finden. Interessant ist, dass der vom Meere bis zum Erdboden zurückgelegte lange Weg, welcher die ökologische Valenz und die Toleranzgrenze dieser Arten weitgehend in Anspruch genommen und erweitert hat, die morphologischen Charaktere nicht wesentlich beeinflusste.

Es ist bekannt, dass bei den marinen Protozoen wegen der hochgradigen Ähnlichkeit in der Ionenkonzentration des Protoplasmas und des Meeres-

wassers die Tiere einer Überschwemmungsgefahr mit Wasser nicht ausgesetzt sind; daher kommen kontraktile Vakuolen bei marinen Protozoen nur sporadisch, und auch dann nur in primitiver, epakmischer Form vor. Die Exkretionsprodukte sammeln sich — wie von der *Amoeba mira* bekannt (Angabe von ADOLPH (1926) in SCHEER (15)), in den Verdauungsvakuolen und werden mit ihrer Hilfe entleert. Bei den in Süßwasserbiotopen geratenen Protozoen hat die Differenzierung der Verdauungsvakuole zur Herausbildung einer einfachen kontraktilen Vakuole geführt. Diese Vakuolen können zur einwandfreieren Versehung der Osmoregulation vervielfacht oder durch besondere Nephridialteile kompliziert werden (5—6). Durch eine derartige Überspezialisierung ist die Anpassung an den Boden überaus erschwert. Hierauf ist es meines Erachtens grossenteils zurückzuführen, dass Organismen, wie z. B. die Paramezien, fast völlig aus dem Boden fehlen. Im Laufe meiner Untersuchungen konnte ich sie weder aus dem Boden, noch unter den Moosen (1) nachweisen, wo sich sonst Infusorien ansiedeln, die den bodenbewohnenden Protozoen weitgehend ähnlich sind. Es ist anzunehmen, dass — je nach den osmotischen Verhältnissen des Bodens — die Frequenz der kontraktilen Vakuole gewisser Protozoenarten sich von der der Süßwasserarten unterscheidet, woraus auf das Ausmass der Anpassung an den Boden geschlossen werden kann. Auf diesem Gebiete hat GELLERT (7) Untersuchungen in der entsprechenden Richtung eingeleitet.

Ein anderer wichtiger Faktor in der Frage der Eroberung von Süßwassertümpeln und teilweise des Erdbodens ist die Entwicklung des Encystierungsvermögens. Die marinen Protozoen pflegen sich — von wenigen Ausnahmen abgesehen — nicht einzukapseln, wogegen die Cystenbildung bei den Süßwasser- und Bodenbewohnern sehr weit verbreitet ist. Der Zusammenhang zwischen Cystenbildung und der Erscheinung des Überganges zum Süßwasserleben scheint klar auf der Hand zu liegen. Das Meer bedeutet für die Protozoen eine ausgeglichene Umgebung, die schädlichen Stoffe können nicht recht zur Anreicherung gelangen. Anders liegen die Dinge in den kleineren, seichteren Süßwasserbiotopen, wo sich gelegentlich optimale Existenzbedingungen für die Protozoen (entsprechende Temperatur-, pH-, Ernährungsverhältnisse usw.), ebenso aber auch ungünstige Verhältnisse herausbilden können. Solche Orte dürften dazu angetan sein, in den Protozoen so hohe Grade der Anpassung entstehen zu lassen, wie die Encystierung. Das Tier ist in diesem Zustande nicht nur durch die Cyste, sondern auch durch den Wasserverlust geschützt, der mit einer sehr grossen Herabsetzung der Lebenserscheinungen einhergeht (16). Bei gewissen Arten spielen sich auch die reproduktiven Vorgänge innerhalb der Cyste ab (z. B. bei den Colpoden). Hiedurch ist auch der Schutz für den wichtigsten physiologischen Vorgang, die Vermehrung, gesichert. Dies ermöglicht die Anwesenheit solcher Arten in allen Biotopen, wo Protozoen überhaupt möglich sind, dass sie z. B. in den meinerseits untersuchten mehrhundert von Kulturen aus dem Boden bzw. der Rhizosphäre sozusagen niemals fehlten.

Die Cystenbildung hat überdies grosse Bedeutung auch in dem Umstand, dass im Falle eines Austrocknens der Süßwasserbiotope der Wind die in die Cysten eingeschlossenen, stark geschrumpften Protozoen zu Milliarden weit fort, in die verschiedensten ökologischen Verhältnisse zu tragen vermag. Diese verschiedenen Orte sind denn allmählich auch bevölkert worden.



Da das Vermögen der Encystierung eine gute Anpassung an die Lebensweise im Boden bedeutet, konnten die verschiedensten Bodenarten, sogar — wenn auch nur ärmlich — auch Wüstengebiete (3, 17) bevölkert werden.

Nach SANDON (14) kommen die meisten der im Boden zu verzeichnenden, etwa 250 Protozoenarten auch in anderen ökologischen Umgebungen vor und sind nicht als wirkliche Boden-Formen zu betrachten. Hieraus ist zu schliessen, dass im Boden sogenannte »Übergangsformen« (2) in der Mehrheit sind. Die Tatsache, dass in ein und demselben Boden aus der Rhizosphäre zu verschiedenen Zeiten einmal reichlich, ein andermal aber nur wenig Protozoen nachweisbar waren, lässt diese Annahme berechtigt erscheinen. Zur Annäherung dieses Problems mit neuen Methoden habe ich einige Verfahren ausgearbeitet, die sich überdies auch zur Untersuchung einiger wichtiger Fragen der Bodenprotistologie als geeignet erwiesen haben.

Die erste Frage lautete, inwiefern die aus dem Boden, aus der Rhizosphäre schnell und massenhaft zu züchtenden und in Wurzelextraktkulturen vorzüglich erhaltbaren *Colpoda fastigata*-Individuen im Boden zu aktivem Leben fähig sind. Zur Entscheidung der Frage habe ich 5 cm hohe Glasgefässe durch eine in der Mitte aufgestellte Glaswand in zwei Hälften geteilt, die eine Hälfte mit durch Erhitzen sterilisierter Gartenerde in Höhe von 3,5 cm und die anderer Gefässe bis zu 4,5 cm Höhe gefüllt. Die zweite Hälfte des Gefässes wurde mit einer — nach langem Probieren als geeignet befundenen — Kulturflüssigkeit beschickt, welche aus einem Gemisch aus *Cichorium intybus*-, *Daucus carota*-Wurzel- und *Colchicum autumnale*-Zwiebelknollenextrakt bestand. Nach dem Durchtränken der Erde mit dieser Kulturflüssigkeit habe ich an der Bodenoberfläche eine kleine Delle ausgehöhlt und durch diese die Erde mit *Colpoda fastigata*-Cysten und Bodenbakterien geimpft. Die Erde nicht enthaltende Hälfte des Gefässes wurde mittels einer Pipette mit Wurzelextrakt bis zu einigen mm Höhe beschickt. Mit dieser von unten her vorgenommenen Befeuchtung erreichte ich, dass die eingeimpften Cysten und Bakterien, bzw. die inzwischen encystierten Colpoden nicht mit der Kulturflüssigkeit in den Boden geschwemmt wurden was bei Zufuhr der Kulturflüssigkeit von oben her der Fall gewesen wäre. Die Kulturflüssigkeit wurde täglich untersucht um festzustellen, wann durch den kleinen Spalt unter der Scheidewand aktive Protozoen in Erscheinung treten. Es zeigte sich, dass in der 3,5 cm hohen Gartenerde die Colpoden binnen 8 und in der 4,5 cm hohen binnen 10 Tagen die Strecke zurückgelegt hatten. Auf ähnliche Weise konnte in rechteckigen Glaswannen (Abb. 1) die Wanderung der Versuchstiere auch durch 12—18 cm hohe Erdschichten erreicht bzw. verfolgt werden; im ersten Falle wurden 31, und im letzteren 35 Tage gebraucht.

Im Laufe der Versuche erhob sich der Verdacht, dass die Colpoden aus der Mitte der Bodensäule auf dem kürzesten Wege, horizontal, die Glaswand erreichen und daneben mit Hilfe der zusammenhängenden Wassermembran zu dem am Boden des Gefässes befindlichen Wurzelextrakt gelangen. Ich habe daher die gläserne Scheidewand der einen Kulturwanne entfernt und die darauf enthaltenen encystierten und aktiven Colpoden mit einem Sublimat-Formaliningemisch (9:1) fixiert. Die Zählung ergab, dass pro cm<sup>2</sup> durchschnittlich 300—350 Protozoen am Glase gehaftet hatten. Da der sterile Boden mit rund 1000—1200 Cysten beimpft worden war, wurde offenbar, dass eine

starke Vermehrung der aktivierten Individuen stattgefunden hatte. Dies besagte aber noch nichts über die Verteilung der experimentell eingeführten Protozoen im Innern der Erdsäule bzw. ob die hochgradige Vermehrung nicht etwa nur an der erwähnten zusammenhängenden Wassermembran erfolgt war. Es wurde nun 11 Monate nach Versuchsbeginn, als aktive Colpoden absolut

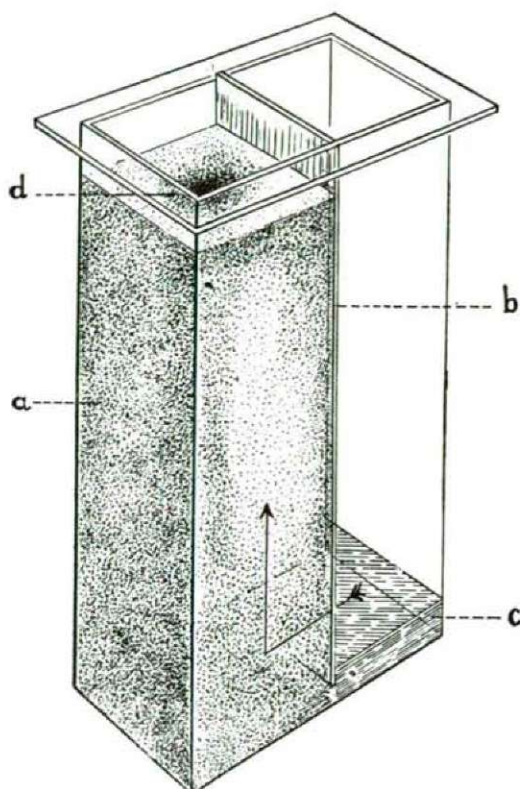


Abbildung 1: Kulturgefäß. a = steriler Boden, b = gläserne Scheidewand, c = Wurzelextrakt, d = Beimpfungsstelle.

nicht mehr nachweisbar waren, je 1 g Bodenprobe aus 3 cm Tiefe entnommen. In diesen Proben konnte 24 Stunden später auf die Wirkung eines verdünnten Wurzelextraktes die Aktivierung von 1007 Colpoden festgestellt werden. Eigentlich ist das auf diese 24 Stunden entfallende Ergebnis das ausschlaggebende, weil später eine intensive Vermehrung einsetzt, welche die wahren Verhältnisse in der Erde der Versuchswanne bereits weitgehend verfälscht.

19 Monate nach Versuchsbeginn erhielt ich ähnliche Ergebnisse auch aus dem Versuchsboden der übrigen Wannen, mit dem Unterschied, dass — während sich im ersten Falle von oben abwärts schreitend in den Proben immer mehr Colpoden encystierten — im zweiten Falle aus dem älteren Versuchsboden ein gerade umgekehrtes Verhältnis resultierte. Da ich die Ver-



suche nicht wiederholte, habe ich dieses vom Gesichtspunkte der Physiologie der Encystierung überaus interessante Phänomen nicht auswerten können.

Die obigen Untersuchungen beweisen, dass die in den sterilen Boden eingimpften *Colpoda fastigata*-Cysten auf die Wirkung der Kulturflüssigkeit und der anwesenden Bakterien aktiviert werden und allmählich den ganzen Boden bevölkern. In aktivem Zustande, aber in immer geringer werdender Zahl, sind sie auch 2 Monate später noch zu beobachten, ja, vereinzelt Exemplare kommen sogar noch nach mehreren Monaten vor. Dies bedeutet natürlich keineswegs, dass die im Freilandboden unter günstigen Umständen entcystierten Protozoen ähnlicherweise Monate hindurch in aktivem Zustand erhalten bleiben. Infolge der antagonistischen Wirkungen gehen viele von ihnen zugrunde oder bilden Cysten, und nur einige wenige Arten bleiben für längere Zeit aktiv. Auch dies muss mit in Betracht gezogen werden, wenn manche Autoren über sehr geringe und andere wieder über sehr hohe Protozoenzahlen berichten, je nach dem, wann die Bodenproben entnommen und untersucht wurden.

Die Untersuchung der aus der Versuchswanne entnommenen Proben und der an der herausgehobenen Glasplatte befindlichen Protozoen überzeugte mich auch davon, dass in der Verbreitung der Mikroorganismen im Versuchsboden die Bakterien vorangehen, ihnen folgen die Flagellaten und dann die Ciliaten.

LOSINSKY und MARTINOV (10) konnten in Petrischalen-Versuchen ebenfalls nachweisen, dass *Bacterium radiciola*, *Vahlkampfia limax* und *Colpoda steinii* — in sterilen Boden verimpft — sich von der Einführungsstelle aus allmählich ausbreiten; auch hier sind die Bakterien den Protozoen voraus.

Die mitgeteilten Ergebnisse liessen mich zu der Überzeugung gelangen, dass die obige Methode zu Untersuchungen in verschiedener Richtung geeignet ist. In weiteren Versuchen habe ich daher den durch Erhitzen sterilisierten Boden in einige zylinderförmige Glasgefässe gegeben, in deren Mitte ich zuvor — mit Papierstreifen aneinandergeklebt — vier Objektträger in Gestalt einer quadratischen Säule aufgestellt hatte (Abb. 2). Diese Lösung hat gegenüber der früheren Versuchsanordnung den grossen Vorteil, dass, nachdem der aufsteigende Wurzelextrakt die dünnen Klebepapierstreifen vernichtet hat, die Objektträger leicht einzeln herausgenommen und die an ihnen haftenden Mikroorganismen studiert werden können. Es kann nicht nur die aktive Lebensgestaltung einzelner Protozoenarten, sondern — was hinsichtlich des Bodenlebens noch viel wichtiger ist — auch die Entwicklung einer schon bekannten und eingimpften Lebensgemeinschaft im Boden verfolgt werden.

Ich habe mich des Verfahrens bei der Lösung der beiden folgenden — bzgl. des Ursprunges der Bodenbakterien wichtigen — Probleme bedient:

a) Welches Verhalten zeigen in sterilen Boden verimpfte Protozoen, die unter und zwischen Moosrasen leben, d. h. Übergangsformen zwischen den ausgesprochen Süsswasser- und Boden- bewohnenden Protozoen sind?

b) Sind die planktonischen Protozoen der Teiche zu aktivem Leben im Boden imstande?

Die Aufwerfung solcher Fragen wurde notwendig durch die Unsicherheit, welche bzgl. des Ursprunges der bodenbewohnenden Protozoen bestand und auch heute noch herrscht.

HAUSMAN (8), der die ökologischen Verhältnisse von 164 Protozoenarten analysierte, fand, dass die Verhältniszahl der in weitgehend verschiedenen Biotopen lebenden Protozoen ähnlich der Verhältniszahl der im Boden gefundenen Formen ist (s. Tabelle 1.).

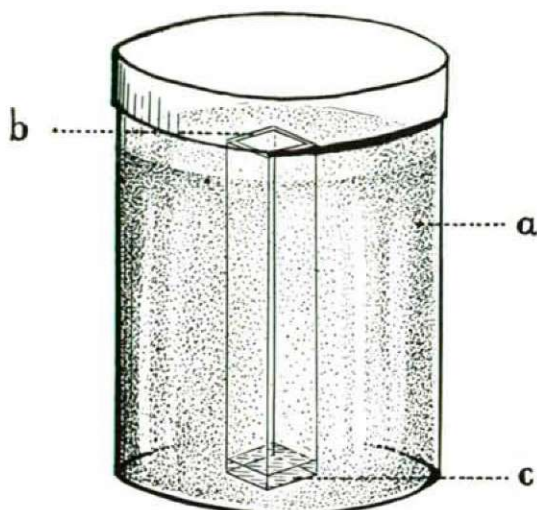


Abbildung 2: Kulturgefäß. a = steriler Boden, b = Glasplatten, c = Wurzelextrakt.

Tabelle 1.

Verschiedene Biotope	Prädominante Formen	Seltene Formen
Sumpftümpel	20	29
Boden	12	18
Klares kaltes Wasser ohne pflanzliche und andere organische Stoffe	5	8
Boden	2	7
Klares fließendes Wasser mit reicher Vegetation	16	20
Boden	10	16
Klare kleine Tümpel mit reichlich verwesenden Stoffen	10	27
Boden	7	18
Algenreiche warme Gewässer	9	8
Boden	4	4
Zwischen abgestorbenen Blättern	5	4
Boden	2	1



SANDON (14) hat treffend darauf hingedeutet, dass die Ökologie der Protozoen praktisch unbekannt ist. Auch ich gelangte zu dieser Meinung, als ich einen Vergleich zwischen Bodenprotozoen und den ökologischen Verhältnissen der in anderen Biotopen auffindbaren arteigenen Einzellern vornehmen wollte. Es zeigte sich, dass die Handbücher (4, 9, 11, 12 und 13) diesbezüglich so ärmliche Angaben enthalten, dass mit ihrer Hilfe eine Aufstellung, ähnlich der von HAUSMAN, nicht angefertigt werden kann. Eine derartige Vergleichstellung auf Grund subjektiver Bewertung wiederum würde wissenschaftlich kaum von Wert sein. Hier sind wir also auf weitere fleissige Datensammlung und experimentelle Untersuchungen angewiesen.

Zu den in Verbindung mit den aufgeworfenen Fragen erforderlichen Untersuchungen verwendete ich kleine Moosrasen von dem natronhaltigen Boden aus der Umgebung des nahe bei Szeged gelegenen Fischteiches Fehértó, aus deren Kulturen vom 11. Jan. 1957 an zwei Monate hindurch die folgenden Protozoen gezüchtet werden konnten:

#### Flagellaten:

*Bodo edax*, *Cercomonas longicauda*, *Chlamidomonas angulosa*, *Entosiphon ovatum*, *Monas* sp., *Ochromonas* sp., *Oicomonas termo*, *Petalomonas abscissa*, *Polytoma papillatum*, *P. uvella* und *Tetramitus pyriformis*.

#### Rhizopoden:

*Amoeba diploidea*, *A. fluida*, *A. gorgonia*, *A. guttula*, *A. proteus*, *A. terricola*, *A. velata*, *A. verrucosa*, *A. vespertilio*, *A. sp.*, *Actinophrys sol.*, *Biomyxa vagans*, *Cochliopodium ambiguum* (?), *Cryptodifflugia oviformis*, *Difflugia globulosa*, *Euglypha alveolata*, *E. rotunda*, *Hartmanella hyalina*, *Parmulina cyathus*, *P. oblecta*, *Pseudochlamis patella*, *Trinema enchelys*, *T. lineare*, *Vahlkampfia limax*.

#### Ciliaten:

*Aspidisca* sp., *Chilodonella calkinski*, *C. cucullulus* Möbius, *Colpoda cucullus*, *C. steinii*, *Cyclidium glaucoma*, *Cyrtolophosis elongata*, *Dileptus conspicuus*, *Encheliodon* sp., *Euplotes* sp., *Glaucoma scintillans*, *Hemiphrys impatiens*, *Halteria grandinella*, *Lionotus lamella*, *Platyophyra lata*, *P. vorax*, *Phacodinium* sp., *Tetrahymena pyriformis*, *Uroleptus mobilis*, *Trichopelma sphagnetorum*, *Vorticella campanula* und *V. microstoma*.

In die mit Wurzelextrakt durchtränkte sterile Gartenerde wurde aus der verrührten Kultur nach zwei Wochen, d. h. dann Überimpfungen vorgenommen, als die Individuen- und Artenzahlen die höchsten Werte zeigten. Die wichtigeren Versuchsdaten sind folgende:

Zeitpunkt der Überimpfung .....	27. I. 1957.
Erscheinen von Bakterien und kleinen Flagellaten in der Kulturflüssigkeit des Gefässes .....	2. II. 1957.
Ausheben des I. Objektträgers und seine Untersuchung .....	11. II. 1957.
Erscheinen der Ciliaten in der Kulturflüssigkeit (im Gefäss B 1 Tag später) .....	14. II. 1957.
Ausheben des II. Objektträgers und seine Untersuchung .....	19. II. 1957.
Ausheben des III. Objektträgers und seine Untersuchung .....	28. II. 1957.

Auch in diesem Versuch fällt auf, dass zuerst die Bakterien, dann die Flagellaten und andere Protozoen den Boden durchwanderten.

Am ersten Objektträger fanden sich zunächst nativ, dann in fixiertem Zustande reichlich *Oicomonas termo* und deren Cysten, in geringerer Zahl *Bodo*-Arten und deren Cysten, *Naegleria gruberi*, *Dimastigamoeba soli* (im Gefäß B ausserdem auch *Vahlkampfia limax*), ferner *Colpoda maupasi* und *C. steinii*. Die Protozoen waren bei einer durchschnittlichen Dichte von 350–360/cm<sup>2</sup> ungleichmässig auf dem Objektträger verstreut.

Am zweiten Objektträger waren wesentlich ähnliche Ergebnisse zu verzeichnen, nur waren hier im ersten Drittel die Colpoden-Cysten stark angereichert.

Der dritte Objektträger enthielt gleichmässig verstreut stark metabolisierte aktive und encystierte Formen von *Oicomonas termo*- und *Bodo*-Flagellaten und Cysten der vorigen Arten. Häufig waren *Naegleria gruberi*, sporadisch *Dimastigamoeba soli* (und in der B-Kultur auch *Colpoda*- und *Trichopelma sphagnetorum*) zu verzeichnen.

Die am 14. II. in der Kulturflüssigkeit erschienenen Protozoen zeigten eine enorme zahlenmässige Vermehrung und auch neue Formen kamen hinzu (neben *Oicomonas termo*, *Naegleria gruberi*, *Dimastigamoeba soli*, *Colpoda maupasi* und *C. steinii*, sowie auch *Bodo globosus* und *Trichopelma sphagnetorum*).

Der Versuchsboden wird also hauptsächlich von denjenigen Arten passiert, die aus dem natürlichen Boden wohl bekannt sind.

Das aus dem nahe bei Szeged gelegenen kleinen Teich an der Cserepes-Sor überimpfte Material zeitigte aber gewissermassen andere Ergebnisse. In den Kulturgefässen fanden sich am Tage der Sammlung (12. II. 1957) vorwiegend *Euglena polymorpha*, *E. oxyurus*, *Chlamidomonas* sp., *Chilodonella cucullulus* Möbius, *C. uncinata*, *Halteria grandinella*, *Spathidium claviforme* und *Cyclidium glaucoma*. Die Versuchsdaten gestalteten sich folgendermassen:

Zeitpunkt der Überimpfung .....	12. II. 1957.
Ausheben des I. Objektträgers und seine Untersuchung ...	18. II. 1957.
Ausheben des II. Objektträgers und seine Untersuchung ...	22. II. 1957.
Ausheben des III. Objektträgers und seine Untersuchung ...	28. II. 1957.
Ausheben des IV. Objektträgers und seine Untersuchung	12. III. 1957.

Der erste Objektträger enthielt ausser Bakterien weder aktive Protozoen noch Cysten.

Am zweiten Objektträger fanden sich einzelne verstümmelte Exemplare von *Naegleria gruberi*.

Am dritten Objektträger fielen neben stark metabolischen *Bodo*- und *Cercobodo*-Arten *Oicomonas termo* und bis zu 2,5 cm ziemlich reichliche *Euglena*-Cysten auf. Bis zur Mitte des Trägers zogen vereinzelt amoeboide *Naegleria gruberi*-Formen abwärts. Lehrreich erscheint die Lage der Ciliaten, von denen *Cyclidium glaucoma* eher an der ersten Hälfte des Trägers und *Tetrahymena pyriformis* eher am unteren Drittel in grosser Zahl vorkamen, während von der Mitte abwärts vereinzelt vorwiegend Hypotrichen und am untersten Ende *Colpoda steinii* in mehr oder minder grossen Haufen haften.

Das Bild des vierten Objektträgers war durch gleichmässiger verteilte *Tetrahymena pyriformis*-, kleine Flagellaten- und *Naegleria*-exemplare, sowie wenige Hypotrichen und Blepharismen charakterisiert. Neben aktiven Formen fanden sich auch reichlich Cysten.



Von den in den Kulturen der Moosrasen von *Fehértó* und den im Teich bei der *Cserepes-Sor* gefundenen planktonischen Protozoen erschienen im Versuchsboden nur wenige Arten, und zwar solche, die grösstenteils aus fast allen Bodensorten nachweisbar sind. Es ist anzunehmen, dass ein Teil der als Bodenbewohner bezeichneten Protozoen aus solchen und ein ähnliches Leben führenden Arten hervorgeht.

Auffallend niedrig erscheint mir die Zahl der aus dem Moosmaterial in den Boden gewanderten Protozoenarten. Die Ursache hierfür dürfte sein, dass ich die Überimpfung zwei Wochen nach dem Ansetzen der Kultur vornahm, zu einer Zeit also, zu der diejenigen Protozoen, die keine Cysten bildeten, teilweise schon zugrundegegangen waren.

Gleichzeitig erachte ich die Zahl der aus dem planktonischen Material hervorgegangenen, in der Erde gut aktivierten und dort wochenlang in aktivem Zustande verbleibenden, aus dem Boden schon bekannten und charakteristischen Arten für sehr gross. Dies ist um so auffallender, als aus den Kulturen, welche das Wasser des Teiches enthielten, diese Arten in aktiver Form sozusagen völlig fehlten. Hier dürfte es sich darum handeln, dass mit dem Wasser des flachen Teiches, zusammen mit dem vom Grunde aufgerührten Geschiebe, Cysten in die Kultur gelangten, welche sich im Wasser nicht entcystierten, sondern erst im Boden, wo sie günstigere Lebensbedingungen vorfanden. Und dies ist eine sehr wichtige Erscheinung, da sie den Schluss zulässt, dass die Protozoen des Bodens intensive Beziehungen zu den mit dem Boden in Berührung stehenden Biotopen unterhalten. Aus diesen Biotopen können Protozoen in den Boden gelangen, wo sie unter entsprechenden Existenzbedingungen an den komplizierten Lebensprozessen der Bodenbiozönose teilnehmen.

Die angewandte Methode erscheint mir auf Grund der bisherigen Untersuchungen geeignet, um durch entsprechende Variierung der verschiedenen sterilen Bodenproben und der zu ihrer Durchtränkung benutzten Medien (filtrierte Bodenlösungen, wässrige Wurzelextrakte, Jauche usw.) von den Protozoen der verschiedenen Biotope diejenigen zu isolieren, welche im Boden für kürzere oder längere Zeit lebensfähig bleiben. Es kann also entschieden werden, welches die nicht echten (euridaphischen) und die echten (euedaphischen) Bodenbewohner sind. Protozoen — zusammen mit mono- oder polybakteriellen Nährlösungen in die sterile Erde des Versuchsgefässes überimpft — gestatten die Verfolgung der Wechselwirkung zwischen Protozoen und Bakterien. Es können die Ernährungsverhältnisse der bodenbewohnenden Protozoen, die Gesetzmässigkeiten der Encystierung usw. studiert werden. Durch Einstellen von mehreren Objektträgern in die Mitte des sterilen Bodens ist die Zahl der zu entsprechenden Zeitpunkten vorzunehmenden Kontrolluntersuchungen zu erhöhen.

Die qualitative Untersuchung des Mikroorganismenmaterials auf den herausgehobenen Objektträgern erfordert ein geübtes Auge und bei den quantitativen Untersuchungen darf nicht ausser acht gelassen werden, dass die an den Bodenschollen haftenden Mikroorganismen schwer zugänglich sind (ein Fehler des CHOLODNY-Verfahrens). Werden durch leichtes Anschlagen die grösseren Erdbröckchen vom Objektträger entfernt und das fixierte Material mit einem grösseren Deckgläschen bedeckt, so können die

Mikroorganismen bei etwa 800-facher Vergrößerung längere Zeit untersucht werden.

Von besonderem Wert erscheint mir an der Methode noch, dass sie eine exakte Bestimmung der Verbreitung bzw. der Diffusionsgeschwindigkeit der Protozoen im Boden gestattet, die mit Hilfe des Quotienten der im Boden zurückgelegten Strecke ( $S$ ) und der dazu benötigten Zeit ( $T$ ) ausgedrückt werden kann. An der aus dem Boden im Versuchsgefäß herausgehobenen Glasplatte ist genau ersichtlich, wie weit innerhalb einer gewissen Zeit das eingepflichte Protozoon im Boden vorzudringen vermag. Hieraus, bzw. aus dem Erscheinen des Versuchstieres in der am Boden des Gefäßes befindlichen Kulturflüssigkeit lassen sich  $S$  und  $T$  leicht ermitteln. Im Besitze dieser Daten kann mit Hilfe einer einfachen Formel auch der sog. Diffusionsquotient ( $DQ$ ) berechnet werden:

$$DQ = S/T$$

Durch Anwendung des Diffusionsquotienten können zahlreiche bodenphysiologische Fragen einer erfolgreichen Untersuchung zugänglich gemacht werden. Zu dieser Annahme berechtigt der Umstand, dass unter ähnlichen Versuchsbedingungen die  $DQ$ -Werte sehr nahe beieinander zu liegen kommen, was die Brauchbarkeit der Methode bestätigt. Dies geht auch aus der Umrechnung der bei den bisher in dieser Richtung angestellten Untersuchungen erhaltenen Daten hervor.

Tabelle 2.

Protozoon	Zeitpunkt der Einimpfung	Erscheinen am Boden des Gefäßes	Zurückgelegte Strecke ( $S$ ), in mm	Benötigte Zeit ( $T$ ) in Tagen	$DQ$
<i>Colpoda fastigata</i>	11. I.	19. I.	35	8	4,4
<i>Colpoda fastigata</i>	11. I.	21. I.	45	10	4,5
<i>Colpoda fastigata</i>	27. I.	27. II.	120	31	3,9
<i>Colpoda fastigata</i>	27. I.	2. III.	180	35	5,1
Ciliaten aus dem Moos von Fehértó	27. I.	14. II.	80	18	4,4
Ciliaten aus dem Teich bei der Cserepes-sor	12. II.	28. II.	80	16	5,0

Der Vergleich der Ergebnisse lässt folgende interessante Gesetzmässigkeit feststellen: trotz der Verschiedenheit der Natur des 1.—4. und des 5. und 6. Versuches (in den ersten vier Fällen war von der Wechselwirkung einer Protozoenart und Bakterien und im 5. und 6. Fall von mehreren Protozoenarten und Bakterien die Rede) zeigen die  $DQ$ -Werte keine wesentliche Abweichung. Dies legt die Vermutung nahe, dass beim Wandern der Protozoen im Boden der Struktur und dem Feuchtigkeitsgehalt des Bodens eine entscheidende Rolle zukommt.



LOSINSKY und MARTINOV (10) kommen auf Grund ihren Untersuchungen in Petrischalen ebenfalls zu dem Schluss, dass der Verbreitungsrhythmus der einzelnen Protozoen (*Vahlkampfia limax*, *Colpoda steinii*) von der Feuchtigkeit und der mechanischen Struktur des Bodens und auch vom Typus der Mikroorganismen abhängig war. Sie fanden nämlich, dass — während *Vahlkampfia limax* binnen 8 Tagen 4 cm zurückgelegt hatte — *Colpoda steinii* nur 1 cm gewandert war. Während nämlich im ersteren Falle  $DQ = 5$  betrug, wurden bei der *Colpoda* Werte von 1,25 gemessen. Der bei der *Vahlkampfia* erhaltene  $DQ$ -Wert stimmt auffallend mit den meinerseits erhaltenen Werten überein, während der für Colpoden angegebene unwahrscheinlich niedrig ist.

Um festzustellen, inwiefern die Gestaltung des  $DQ$  von dem wechselseitigen Verhältnis der Mikroorganismen beeinflusst wird, können mit der skizzierten Methode zahlreiche Versuche angestellt werden, die möglicherweise auch wertvolle Anhaltspunkte in bezug auf die Bodenaktivität liefern können.

### Zusammenfassung

1. Die Möglichkeit einer Ausbreitung der marinen Protozoen im Erdboden ist durch die kleineren feuchten Biotope, Tümpel, Moosrasen und Flechten des Kontinents gegeben. Wegweiser des Prozesses sind: das Erscheinen gewisser, im Meere auch heute noch lebender Protozoen im Boden, die Entwicklung einer kontraktilen Vakuole und des Encystierungsvermögens.

2. Die in den von unten her mit verdünnten Wurzelextrakten durchtränkten, sterilen Erdboden eingepfropften *Colpoda fastigata*-Cysten sind aktiviert worden und haben den ganzen Boden bevölkert; 18 cm hohe Bodenschichten wurden mit Leichtigkeit durchwandert.

3. Ein Teil der in Moosrasen und Süßwasser lebenden Protozoen ist nach Überimpfung in sterile Erde ebenfalls zu aktivem Leben fähig. Die Mehrzahl dieser Arten konnte auch aus dem Boden, der Rhizosphäre nachgewiesen werden. Die Protozoen stehen also in reger Beziehung zu den mit dem Boden in Berührung stehenden Biotopen.

4. Durch meine Untersuchungen erfahren die Beobachtungen anderer Autoren, nach denen von den in den Boden überimpften Mikroorganismen zuerst die Bakterien, dann die Flagellaten und zuletzt die übrigen Protozoen zur Ausbreitung gelangen, eine Bestätigung.

5. Zu den Untersuchungen wurde eine neue Methode herangezogen, deren Wesen kurz folgendes ist: in die Mitte des sterilen Nährbodens werden Objektträger säulenartig aufgestellt. Durch den so entstehenden Kanal können verschiedene Kulturflüssigkeiten unter den Boden gebracht werden, von wo aus sie aufgesaugt werden. Die einzelnen Objektträger können in beliebigen Zeiträumen herausgehoben und an ihnen die Verbreitung und Biozönose der eingepfropften Mikroorganismen studiert werden. Die Methode eignet sich auch zur Untersuchung anderer, auf das Gebiet der Bodenphysiologie gehörender Fragen.

6. Mit Hilfe des obigen Verfahrens lässt sich die Diffusionsgeschwindigkeit der Mikroorganismen exakt ermitteln. Der Quotient der zurückgelegten Strecke ( $S$ ) und der dazu erforderlichen Zeit ( $T$ ) liefert vergleichsfähige Werte; diesen Wert habe ich als Diffusionsquotienten ( $DQ$ ) bezeichnet.  $DQ = S/T$ . Der  $DQ$  zeigte unter ähnlichen Versuchsbedingungen für verschiedene Ciliaten in mit verdünntem Wurzelextrakt durchtränkter, steriler Gartenerde Tegesschwankungen zwischen 3,9 und 5,1 mm.

## Schrifttum

- (1) Ábrahám, A., Biczók, F., Horváth, A. und Megyeri, J.: Hidrobiologische und faunistische Studien im südwestlichen Teile des Bükk-Gebirges. Acta Biol. Act. Univ. Szegediensis, **3**, 137—154 (1956).
- (2) Balogh, J.: A zoocönologia alapjai. Budapest (1953).
- (3) Brodsky, A. L. and Jankowskaja, A.: Contribution for the study of soilfauna in Central-Asia. 2. Soil protofauna in the desert Kara-Kum. Act. Univ. Asiae Med. Tashkent 12, Georg. **6**, 1—53 (1929).
- [4] Doflein, F. und Reichenov, E.: Lehrbuch der Protozoenkunde. Jéna **I** (1949), **II** (1952).
- (5) Gelei, J.: A véglények kiválasztószerve. Mat. Term. tud. Közl. Budapest, (1935).
- (6) Gelei, J.: Az egysejtűek morphogenesise tekintettel Szevercov morphogenetikus alapelveire. MTA Biol. és Agr. tud. Oszt. Közl., **2**, 3—52 (1951).
- (7) Gellért, J.: Néhány hazai lomblevelű és tűlevelű erdő talajának Ciliata faunája. MTA Tihanyi Biol. Kut. Int. Évkönyve, **24**, 11—34 (1957).
- (8) Hausman, L. A.: Observations on the Ecology of the Protozoa. Amer. Nat. **11**, 157—172 (1917).
- (9) Kahl, A.: Wimpertiere oder Ciliata in *Dahl-Bischoff*: Tierwelt Deutschlands, **I**, 18 (1930).
- (10) Losina-Losinszky, L. and Martinov, P. P.: A methode of studying the activity and rate of diffuzion of protozoa and bacteria in soil. Soil Sc. **29**, 349—362 (1930).
- (11) Pascher, A.: Die Süßwasser-Flora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz (1914—1927).
- (12) Pénard, E.: Faune Rhizopodique, Genève (1902).
- (13) Pierre-P, Grasse: Traite de Zoologie Anatomie Systematique, Biologie **I**, Paris (1952—53).
- (14) Sandon, M. A.: The Composition and Distribution of the Protozoa Fauna of the Soil. London (1927).
- (15) Scheer, B. T.: Comparative Physiology. New-York (1948).
- (16) Scholander, P. F.—Claff, C. L. and Sveinsohn, S. L.: Respiratory Studies of single Cells. II. Observations on the oxigen consumption in single Protozoans. Biol. Bull. **102—103**, 178—184, (1952).
- (17) Varga, L.: Études sur la fauna des protozoaires de quelques sols du Sahara et des hauts plateaux Algériens. Ann. Inst. Pasteur, **56**, 101—123, (1936).

Anschrift des Verfassers: Oberassistent Dr. F. BICZÓK, Institut für Allgemeine Zoologie und Biologie der Universität, Tánácsics M. 2. Szeged (Ungarn).